DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00935

·论 著·

促卵泡激素通过活性氧途径调控卵巢癌细胞 Nrf2 蛋白的表达

马 洁[1△],王倩倩[2△],廖 虹[3],杨永彬[2],金志军[1*],张箴波[2],祝亚平[2],丰有吉[2]
1.第二军医大学长征医院妇产科,上海 200003
2.上海交通大学医学院附属第一人民医院妇产科,上海 200080
3.同济大学附属上海市第一妇婴保健院妇产科,上海 200040

[摘要] **目的** 通过观察促卵泡激素(FSH)、活性氧(ROS)及其特异性抑制剂对卵巢癌细胞中红系衍生的核因子2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2-related factor-2,Nrf2)表达的影响,探讨FSH是否通过ROS途径调控卵巢癌细胞Nrf2的表达。**方法** (1)采用免疫组织化学方法检测Nrf2在卵巢癌良恶性组织中的表达。(2)用不同浓度的FSH刺激卵巢癌Hey细胞不同时间,采用蛋白质印迹法检测细胞内Nrf2蛋白的表达。(3)采用ROS检测试剂盒检测80 mIU/ml的FSH刺激后不同时间Hey细胞内ROS的生成情况。(4)Hey细胞经不同浓度的H_2O_2刺激48 h后,或经ROS特异性抑制剂N-乙酰半胱氨酸(NAC)预处理后加入150 mmol/L的H_2O_2处理48 h,观察细胞内Nrf2的表达。(5)Hey细胞经不同浓度的NAC预处理1 h,加入80 mIU/ml的FSH共孵育48 h,观察细胞内Nrf2表达的变化。**结果** (1)10例良性卵巢囊肿组织中仅3例有Nrf2蛋白的弱阳性表达,而64例卵巢癌组织中42例(65.6%)有Nrf2蛋白的阳性表达,两组差异有统计学意义($P=0.042$)。(2)FSH可上调Hey细胞内Nrf2的表达,并呈一定的剂量、时间依赖效应。(3)FSH可促进Hey细胞ROS的产生。(4)H_2O_2可诱导Hey细胞Nrf2蛋白的表达,且其作用可被NAC阻断。(5)NAC可阻断FSH所诱导的Nrf2蛋白的表达。**结论** FSH可促进卵巢癌Hey细胞中ROS产生,上调Nrf2蛋白表达,抑制ROS途径可阻断FSH诱导的Nrf2高表达。提示FSH可能通过ROS途径调控卵巢癌Nrf2的表达,进而促进肿瘤发生。

[关键词] 卵巢肿瘤;促卵泡激素;活性氧;红系衍生的核因子2相关因子2
[中图分类号] R 737.31 [文献标志码] A [文章编号] 0258-879X(2012)09-0935-05

ROS production is required for follicle-stimulating hormone-induced Nrf2 activation in human epithelial ovarian cancer cells

MA Jie[1△], WANG Qian-qian[2△], LIAO Hong[3], YANG Yong-bin[2], JIN Zhi-jun[1*], ZHANG Zhen-bo[2], ZHU Ya-ping[2], FENG You-ji[2]
1. Department of Obstetrics and Gynecology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China
2. Department of Obstetrics and Gynecology, Shanghai First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China
3. Department of Obstetrics and Gynecology, Shanghai First Maternity and Infant Hospital, Tongji University, Shanghai 200040, China

[**Abstract**] **Objective** To observe the effects of follicle-stimulating hormone (FSH), reactive oxygen species (ROS) and its specific inhibitor on expression of Nrf2, so as to study the possible role of ROS signal pathway in FSH-mediated Nrf2 expression in Hey ovarian cancer cells. **Methods** The expression of Nrf2 in benign and malignant ovarian tissues was determined by immunohistochemical method. Ovarian cancer Hey cells were treated with different concentrations of FSH for different periods, and Western blotting analysis was used to examine Nrf2 protein expression. The generation of ROS was evaluated in Hey ovarian cancer cells by reactive oxygen species assay kit after stimulation with FSH (80 mIU/ml) for different periods. Hey cells were treated with different concentrations of H_2O_2 stimulation for 48 h or 150 mmol/L H_2O_2 after pretreatment with specific ROS inhibitors NAC for 48 h, then the expression of Nrf2 was examined by Western blotting analysis. Hey cells were pretreated with different concentrations of NAC for 1 h, and then incubated with FSH (80 mIU/ml) for 48 h and Nrf2

[收稿日期] 2012-03-23 [接受日期] 2012-06-15
[基金项目] 国家自然科学基金(81001155,81020108027),上海市卫生局面上项目(2009028). Supported by National Natural Science Foundation of China (81001155,81020108027), and Program of Shanghai Health Bureau(2009028).
[作者简介] 马 洁,硕士生,住院医师. E-mail: 321majie@sina.com; 王倩倩,硕士生,住院医师. E-mail: 359797921@qq.com
△共同第一作者(Co-first authors).
*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81885872, E-mail: jzj_888@yahoo.com.cn

expression was observed. **Results** (1) Three of 10 benign ovarian cyst tissues had weak expression of Nrf2 protein; 42 (65.6%) of the 64 ovarian cancer tissues had Nrf2 protein expression ($P=0.042$). FSH up-regulated Nrf2 expression in a dose- and time-dependent manner. FSH promoted the generation of ROS in ovarian cancer cells. H_2O_2 promoted Nrf2 expression, which could be blocked by NAC. FSH-induced Nrf2 protein expression could be inhibited by NAC. **Conclusion** FSH can promote ROS generation and Nrf2 protein expression in ovarian cancer cells. Block of ROS pathway could inhibit FSH-induced overexpression of Nrf2, indicating FSH may regulate Nrf2 protein by ROS pathway, contributing to the development of ovarian cancer.

[**Key words**] ovarian neoplasms; follicle-stimulating hormone; reactive oxygen species; nuclear factor-erythroid 2-related factor-2

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(9): 935-939]

卵巢癌是严重影响女性健康的生殖道恶性肿瘤之一。卵巢癌发病机制的探讨一直是研究的热点，且有多种假说[1]，其中高促性腺激素理论认为绝经后高水平的促性腺激素，特别是促卵泡激素(follicle stimulating hormone，FSH)是卵巢癌发生的高危因素[2]。但 FSH 引起卵巢癌发生的机制仍不清楚。近年来人们普遍认识到活性氧(reactive oxygen species，ROS)是肿瘤发生的高危因素之一，ROS 可活化一系列的信号通路，调控肿瘤的生物活性[3-5]。红系衍生的核因子 2 相关因子 2(nuclear factor-erythroid 2-related factor-2，Nrf2)是一种新近发现的转录因子，它可以启动多种抗氧化酶和Ⅱ相解毒酶的活化[6]。Nrf2 可与 ROS 反应，诱导 Nrf2-抗氧化反应元件(ARE)信号通路调节的基因表达，在肿瘤发生及肿瘤耐药性方面都起着极其重要的作用[7-8]。本研究检测了卵巢癌组织中 Nrf2 蛋白的表达，并观察了 FSH 刺激后卵巢上皮性癌细胞株 Nrf2 蛋白的表达以及 ROS 和(或)ROS 特异性抑制剂对 FSH 作用的影响，旨在探讨 FSH 可否通过 ROS 途径调控 Nrf2 的表达，进而影响肿瘤的发生发展。

1　材料和方法

1.1　*材料*　Hey 卵巢上皮性癌细胞株由上海市第一人民医院妇产科丰有吉教授的课题组保存。DMEM-F12 培养液、胎牛血清购自 Hyclone 公司；FSH 以及 ROS 特异性抑制剂 N-乙酰半胱氨酸(NAC)购自 Sigma 公司，Nrf2 抗体、ROS 检测试剂盒均购自 Abcam 公司，GAPDH 抗体购自 Cell Signaling 公司，ECL 发光剂购自 Perkin-Elmer 公司。

1.2　*卵巢癌组织中 Nrf2 蛋白的表达*　于上海第一人民医院妇产科收集 10 例良性卵巢囊肿和 64 例卵巢癌组织标本，对石蜡包埋组织进行 5 μm 连续切片，采用免疫组织化学方法检测 Nrf2 蛋白的表达。以人浆液性子宫内膜癌组织作为阳性对照[9]，以与 Nrf2 没有免疫原性的 IgG 孵育的卵巢癌组织切片作为阴性对照。免疫组化染色采用 S-P 法。抗原修复采用高温加热法：切片浸入柠檬酸钠缓冲液(pH 6.0)中，高压锅煮沸 15 min，室温下自然冷却。兔抗人 Nrf2 多克隆抗体按 1∶100 稀释。实验步骤严格按照免疫组化试剂盒说明进行。Nrf2 蛋白表达以细胞质或细胞核内出现棕黄色颗粒为阳性。采用半定量方法对免疫组化染色结果进行评估，总评分为阳性细胞数计分×染色强度计分。首先每张切片随机观察 5 个高倍视野，每个视野计数 1 000 个细胞，根据各视野中阳性细胞数的平均百分数进行计分，标准：5%为 0，6%～25%为 1，26%～50%为 2，51%～75%为 3，>75%为 4；再根据染色强度进行计分，标准：未染色为 0，弱为 1，中度为 2，强为 3；最终，得分 0 表示阴性，1～4 为弱阳性(+)，5～8 为阳性 (++)，9～12 为强阳性(+++)。

1.3　*细胞培养*　Hey 细胞用含 10%胎牛血清、100 U/L 青霉素和 100 U/L 链霉素双抗的 DMEM-F12 培养液，置于 37℃、5%CO_2细胞培养箱中培养，待细胞处于对数生长期时用于下列实验。实验开始前将 Hey 细胞在乏胎牛血清培养液中培养 24 h 以使细胞同步化。

1.4　*FSH 刺激卵巢癌细胞 Nrf2 蛋白表达的量效及时效观察*　卵巢癌 Hey 细胞经不同浓度(10、40、80 mIU/ml)的 FSH 刺激 48 h，收集细胞，采用蛋白质印迹法检测 Nrf2 蛋白的表达。选择 FSH 的最佳刺激浓度处理 Hey 细胞 24、48、72 h，收集细胞，采用蛋白质印迹法检测 Nrf2 蛋白的表达。

1.5　*ROS 在 FSH 刺激卵巢癌细胞 Nrf2 蛋白表达中的作用*

1.5.1　*FSH 刺激后卵巢癌细胞内 ROS 的检测*　用 80 mIU/ml 的 FSH 处理卵巢癌 Hey 细胞不同时间(0、20 min、6 h)后，采用 DCF(dichlorofluorescein，二氯荧光黄)法检测细胞内 ROS 水平。用无血清培养液按照 1∶1 000 稀释二氯二氢荧光黄双乙酸钠(DCFH-DA)，使终浓度为 50 μmol/L。去除细胞培养液，加入适当体积稀释好的 DCFH-DA，以充分盖住细胞为宜。37℃细胞培养箱内孵育 20 min。用无血清细胞培养液洗涤细胞 3 次，置于荧光显微镜下直接观察，根据 DCF 的荧光判断细胞内 ROS 的生成。

1.5.2　外源性 ROS 对卵巢癌细胞 Nrf2 蛋白表达的影响　(1)Hey 细胞经不同浓度(50、100、150、200 mmol/L)的 H_2O_2 刺激 48 h,收集细胞。(2)采用不同浓度(10、50、100 μmol/L)的 ROS 特异性抑制剂 NAC 预处理细胞 1 h 后,加入 150 mmol/L 的 H_2O_2 处理 48 h,收集细胞。采用蛋白质印迹法检测上述收集到的细胞中 Nrf2 的表达。

1.5.3　ROS 特异性抑制剂对 FSH 作用的影响　应用不同浓度(10、50、100 μmol/L)的 ROS 特异性抑制剂 NAC 预处理 Hey 细胞 1 h 后,加入 FSH(80 mIU/ml)共孵育 48 h,收集细胞,进行蛋白质印迹检测。

1.6　蛋白质印迹分析　收集上述处理后的细胞,裂解后收集上清液,以 BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度。将 60 μg 蛋白上样于 10% 的 SDS 进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,电泳结束后,将蛋白转印至 PVDF 膜上,应用稀释好的 Nrf2(1∶5 000)和 GAPDH 抗体(1∶1 000)于 4℃孵育过夜,经 TBST 洗涤后,选择合适的二抗(1∶3 000 稀释的抗兔抗体)孵育 1 h,经 TBST 洗涤后,应用 ECL 化学发光法检测目的蛋白表达情况。实验重复 3 次。

1.7　统计学处理　卵巢两种不同病变组织 Nrf2 蛋白阳性表达率的比较采用 Fisher 精确概率计算法。采用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析,检验水平(α)为 0.05。

2　结　果

2.1　Nrf2 在卵巢癌组织中的表达　结果显示,良性卵巢囊肿组织 Nrf2 蛋白阳性染色特点为少量细胞胞质或胞核内出现棕黄色颗粒(图 1A),卵巢癌组织的阳性染色呈棕黄或棕褐色(图 1B)。10 例良性卵巢囊肿组织中仅 3 例有 Nrf2 蛋白的表达,均为弱阳性(+);而 64 例卵巢癌组织中有 42 例(65.6%)Nrf2 蛋白表达阳性,其中弱阳性 13 例(31.0%),阳性(++)10 例(23.8%),强阳性(+++)19 例(45.2%)。Nrf2 在卵巢癌组织中的阳性表达率高于良性卵巢囊肿,差异有统计学意义($P=0.042$)。

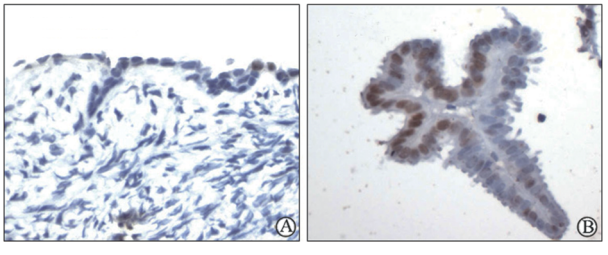

图 1　Nrf2 在卵巢组织中的表达

Fig 1　Nrf2 expression in the ovarian tissue

A: Benign ovarian tumor; B: Ovarian cancer. S-P staining, original magnification: ×400

2.2　Nrf2 在经 FSH 刺激的卵巢癌细胞中的表达　应用不同浓度的 FSH 刺激卵巢癌 Hey 细胞 48 h 后,收集细胞,进行蛋白质印迹检测。结果显示:随着 FSH 浓度的增加,Nrf2 的表达量也相应增加;FSH 浓度为 80 mIU/ml 时表达量最高,表明该浓度下 FSH 上调 Nrf2 表达的效果最明显(图 2A)。应用 80 mIU/ml 的 FSH 分别处理 Hey 细胞 24、48、72 h,收集细胞检测 Nrf2 蛋白的表达。结果显示:与空白对照组相比,随着时间的增加,Nrf2 的表达量也相应增加,48 h 达高峰,但 72 h 明显下降,表明当作用时间达 48 h 时,FSH 的刺激效果最明显(图 2B)。

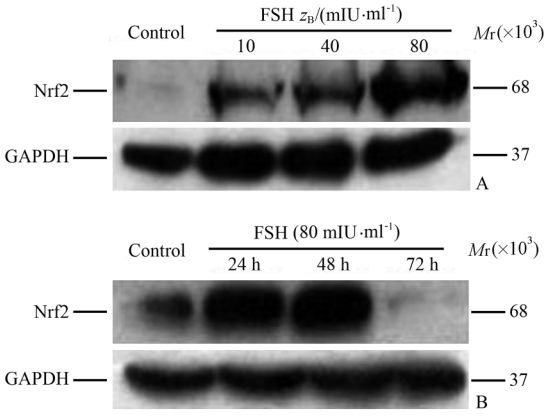

图 2　FSH 在不同浓度(A)或不同作用时间(B)下对卵巢癌细胞 Nrf2 蛋白表达的影响

Fig 2　Nrf2 protein expression in ovarian cancer cells after treatment with FSH at different concentrations(A) or for different periods(B)

FSH: Follicle stimulating hormone

2.3　FSH 刺激后卵巢癌细胞内 ROS 的产生　培养的 Hey 细胞经 80 mIU/ml 的 FSH 处理 20 min 和 6 h 后,ROS 水平升高(图 3)。提示 FSH 能够促进卵巢癌细胞产生 ROS。

2.4　外源性 ROS 对卵巢癌细胞 Nrf2 蛋白表达的影响　应用不同浓度的 H_2O_2 处理 Hey 细胞 48 h 后,发现随着 H_2O_2 浓度的增加,Nrf2 的表达也相应增加,当 H_2O_2 浓度达到 150 mmol/L 时,Nrf2 的表达量最高(图 4A)。但是当应用不同浓度的 ROS 抑制剂 NAC 预处理细胞 1 h 后,H_2O_2(150 mmol/L)对 Nrf2 的上调作用被明显抑制(图 4B)。

2.5　ROS 抑制剂对 FSH 诱导 Nrf2 蛋白表达的影响　应用不同浓度的 ROS 抑制剂 NAC 预处理 Hey 细胞 1 h,加入 80 mIU/ml 的 FSH 共孵育 48 h,结果发现:与对照组相比,单纯 FSH 处理组的 Nrf2 表达明显上调;而经 NAC 预处理过的细胞,即使加入 FSH 刺激后,Nrf2 的表达仍然受到抑制(图 5)。

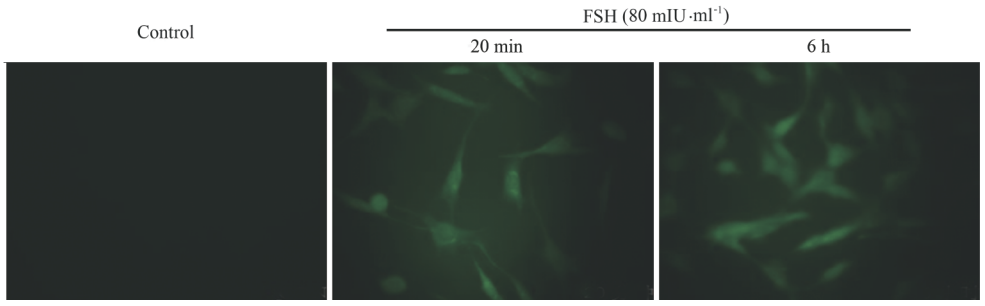

图 3　80 mIU/ml FSH 刺激后卵巢癌细胞 ROS 的产生

Fig 3　Generation of ROS in ovarian cancer cells after incubated with 80 mIU/ml FSH

ROS：Reactive oxygen species；FSH：Follicle stimulating hormone. Original magnification：×400

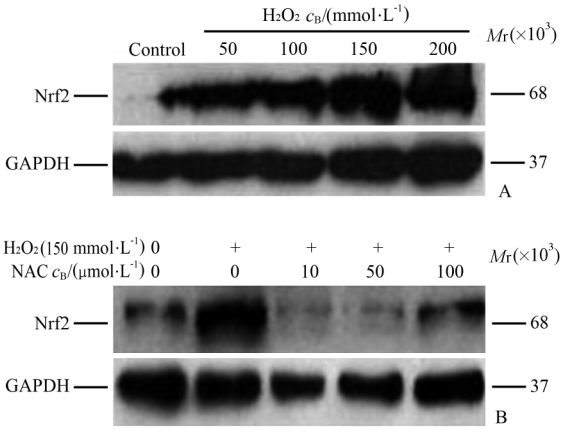

图 4　不同浓度 H_2O_2(A)和不同浓度 NAC(B)对 Nrf2 蛋白表达的影响

Fig 4　Effect of different concentrations of H_2O_2(A) and concentrations of NAC(B) on expression of Nrf2 protein as detected by Western blotting analysis

NAC：N-acetyl cysteine

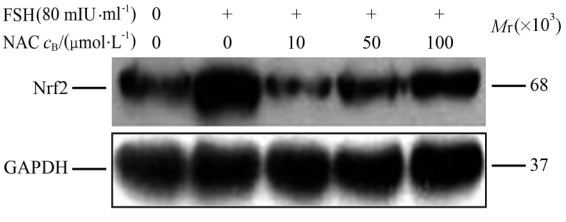

图 5　不同浓度 NAC 对 FSH 诱导 Nrf2 蛋白表达的影响

Fig 5　Effect of NAC on FSH-induced expression of Nrf2 protein

FSH：Follicle stimulating hormone；NAC：N-acetyl cysteine

3　讨　论

卵巢癌病死率在妇科恶性肿瘤中高居首位，其主要原因是由于缺乏早期预警，以致确诊时多数患者已属晚期。因此，了解卵巢癌发病的分子基础，寻找早期诊断方法，将有助于针对特定靶点的药物研发以及对卵巢癌患者进行及时有效的治疗。

卵巢是 FSH 的主要靶器官。研究表明，卵巢癌细胞含有 FSH 受体，FSH 能促进正常卵巢细胞和卵巢癌细胞增殖[10]；流行病学研究显示绝经后妇女的卵巢癌发病率明显高于生育期妇女，围绝经和绝经妇女体内血清高 FSH 水平与卵巢癌发生发展密切相关[11-12]。但 FSH 调控卵巢癌的发病机制仍不明确。

Nrf2 是一种新发现的转录因子，其在肿瘤发生发展中的作用日益受到关注。Tuveson 研究小组[13]在对 Nrf2 和它的抑制蛋白 Keap1 管理的一种已知的细胞抗氧化剂途径的研究中发现，3 种主要的癌基因如 K-ras、Braf 和 Myc 与 Nrf2 均在多种人类肿瘤中表达；Nrf2 水平的增加降低了细胞内 ROS 的水平，清除了细胞中的自由基。该研究小组采用遗传学和药物学的手段阻断患有胰腺癌和肺癌的模式小鼠中 Nrf2 的表达，发现 Nrf2 的丧失使小的早期肿瘤不能继续发展，表明 Nrf2 途径对于癌基因充分发挥其功能具有重要的意义。已有实验证明，在卵巢癌 OV90 细胞中，抑制 Nrf2 通路可增强多柔比星在体外的细胞毒作用[14]。另外，Chen 等[15]发现 Nrf2 在子宫内膜癌中高表达，提示其可能是子宫内膜癌发生的分子基础之一。同样，在子宫内膜癌中，蒋涛等[9]发现 Nrf2 与耐药密切相关。但 Nrf2 在卵巢癌中的表达以及与卵巢癌发展之间的关系报道尚少见。在本实验中，我们发现 Nrf2 在卵巢癌组织中高表达，在良性卵巢肿瘤中只检测到少量低表达，推测 Nrf2 也可能参与卵巢癌发生的早期分子改变。鉴于 FSH 是卵巢癌发生的高危因素，我们检测了 FSH 对卵巢癌细胞 Nrf2 蛋白表达的影响，发现 FSH 可上调 Nrf2 表达，并呈一定的剂量、时间依赖效应。

由于 Nrf2 通常受氧化应激调控，因此，我们对 ROS 与 FSH 的作用进行了进一步的研究。实验中发现，FSH 可刺激卵巢癌细胞内 ROS 的生成，ROS

也可上调 Nrf2 的表达;当卵巢癌细胞内 ROS 的生成被阻断后,FSH 上调 Nrf2 蛋白表达的作用受到抑制。

细胞内的氧化-还原状态对于细胞的生长、增殖、凋亡都至关重要,而维持细胞内这种氧化-还原状态平衡的主要因素是 ROS[16-17]。ROS 包括氧自由基及其衍生物,广泛参与细胞内信号的传递,调控细胞对外界刺激的反应,决定细胞的命运。正常情况下,细胞内 ROS 的产生和消除处于动态平衡状态,ROS 的平衡和抗氧化剂的水平决定着癌细胞的凋亡情况。近年来的研究提示当生物体受到过量的 ROS 分子刺激时,氧化应激上升,同时会活化许多抗氧化酶及Ⅱ相解毒酶基因的表达[18]。"Nrf2 的丧失使小的早期肿瘤不能继续发展"这种令人吃惊的结果表明癌细胞在没有 Nrf2 存在下,是不能够生长的[12]。结合本研究结果,我们推测,细胞内 FSH 浓度的升高,促进肿瘤细胞产生过多的 ROS,破坏了细胞内的氧化-还原平衡,导致了抗氧化应激的 Nrf2 水平代偿性地升高,从而产生耐药、DNA 损伤等现象,进而抑制肿瘤细胞的凋亡。但是由于细胞信号通路的复杂性,以及相互之间的串话关联多样性,这一过程还需进一步的研究。

4　利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参 考 文 献]

[1] Holschneider C H, Berek J S. Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors[J]. Semin Surg Oncol, 2000, 19: 3-10.

[2] Arslan A A, Zeleniuch-Jacquotte A, Lundin E, Micheli A, Lukanova A, Afanasyeva Y, et al. Serum follicle-stimulating hormone and risk of epithelial ovarian cancer in postmenopausal women[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2003, 12: 1531-1535.

[3] Cook J A, Gius D, Wink D A, Krishna M C, Russo A, Mitchell J B. Oxidative stress, redox, and the tumor microenvironment [J]. Semin Radiat Oncol, 2004, 14: 259-266.

[4] Fruehauf J P, Meyskens Jr F L. Reactive oxygen species: a breath of life or death? [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13: 789-794.

[5] Lu W, Ogasawara M A, Huang P. Models of reactive oxygen species in cancer[J]. Drug Discovery Today Dis Models, 2007, 4: 67-73.

[6] Lee J M, Johnson J A. An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism[J]. J Biochem Mol Biol, 2004, 37: 139-143.

[7] Kensler T W, Wakabayashi N, Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2007, 47: 89-116.

[8] Sporn M B, Liby K T. Cancer chemoprevention: scientific promise, clinical uncertainty[J]. Nat Clin Pract Oncol, 2005, 2: 518-525.

[9] Jiang T, Chen N, Zhao F, Wang X J, Kong B, Zheng W, et al. High levels of Nrf2 determine chemoresistance in type Ⅱ endometrial cancer[J]. Cancer Res, 2010, 70: 5486-5496.

[10] Syed V, Ulinski G, Mok S C, Yiu G K, Ho S M. Expression of gonadotropin receptor and growth responses to key reproductive hormones in normal and malignant human ovarian surface epithelial cells[J]. Cancer Res, 2001, 61: 6768-6776.

[11] Stadel B V. Letter: the etiology and prevention of ovarian cancer[J]. Am J Obstet Gynecol, 1975, 123: 772-774.

[12] Lukanova A, Kaaks R. Endogenous hormones and ovarian cancer: epidemiology and current hypotheses[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2005, 14: 98-107.

[13] DeNicola G M, Karreth F A, Humpton T J, Gopinathan A, Wei C, Frese K, et al. Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis[J]. Nature, 2011, 475: 106-109.

[14] Manandhar S, Lee S, Kwak M K. Effect of stable inhibition of NRF2 on doxorubicin sensitivity in human ovarian carcinoma OV90 cells[J]. Arch Pharm Res, 2010, 33: 717-726.

[15] Chen N, Yi X F, Nisreen A, Pang S, Zhang D, Kong B, et al. Nrf2 expression in endometrial serous carcinomas and its precancers[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2011, 4: 85-96.

[16] Hernández-García D, Wood C D, Castro-Obregón S, Covarrubias L. Reactive oxygen species: A radical role in development? [J]. Free Radic Biol Med, 2010, 49: 130-143.

[17] Won J S, Singh I. Sphingolipid signaling and redox regulation [J]. Free Radic Biol Med, 2006, 40: 1875-1888.

[18] Wakabayashi N, Dinkova-Kostova A T, Holtzclaw W D, Kang M I, Kobayashi A, Yamamoto M, et al. Protection against electrophile and oxidant stress by induction of the phase 2 response: Fate of cysteines of the Keap1 sensor modified by inducer[J]. Proc Natl Acad Sci, 2004, 101: 2040-2045

[本文编辑]　魏学丽,邓晓群